Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen - Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. H. B. Wuermeling

Untersuchungen zur Korrelation der Cholinesterase-Ausgangsaktivität des menschlichen Serums und der Restaktivität nach Vergiftung mit E 600 (0,0-Diäthyl-0-(p-nitrophenyl)-phosphat)

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
des Hohen Fachbereichs Medizin
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von

Alfred Schwarzfischer

aus Waging/See

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen - Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. H. B. Wuermeling

Untersuchungen zur Korrelation der Cholinesterase - Ausgangsaktivität des menschlichen Serums und der Restaktivität nach Vergiftung mit E 600 (0,0-Diäthyl-0-(p-nitrophenyl)-phosphat)

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
des Hohen Fachbereichs Medizin
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von

Alfred Schwarzfischer

aus Waging/See

Gedruckt mit der
Erlaubnis des Fachbereichs Medizin
der Universität Erlangen - Nürnberg

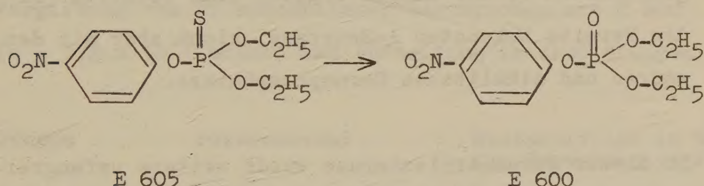
komm. Dekan: Prof. Dr. E.Rügheimer
Referent: Prof. Dr. Dr. M.Geldmacher-v.Mallinckrodt
Korreferent: Prof. Dr. H.B.Wuermeling

Tag der mündlichen Prüfung: 13.1. 1975

Inhaltsverzeichnis

A. EINLEITUNG

E 605 (0,0-Diäthyl-0-(p-nitrophenyl)-thiophosphat), vor allem als Ungezieferbekämpfungsmittel bekannt, wird im Organismus des Warmblüters durch Austausch von Schwefel gegen Sauerstoff zu E 600 (0,0-Diäthyl-0-(p-nitrophenyl)-phosphat) umgebaut:



Die stark toxische Wirkung in vivo beruht darauf, daß E 600 (Paraoxon) im Enzym Cholinesterase, die sich auch im menschlichen Serum findet, an den gleichen Rezeptor wie Acetylcholin tritt und es durch Phosphorylierung blockiert; das Ergebnis ist eine mehr oder weniger irreversible Hemmung der Cholinesterasen.

Über die Frage, welches Enzym für die Hydrolyse von organischen Phosphorverbindungen verantwortlich ist, wurden von verschiedenen Seiten umfangreiche Untersuchungen vorgenommen. So fand Aldridge (1953 a) als erster im Serum verschiedener Tierarten und des Menschen ein E 600-spaltendes Enzym (Arylesterase, Paraoxonase),

das nach seinen Untersuchungen mit der sogenannten A-Esterase (Arylesterase) identisch ist, die im Gegensatz zur sogenannten B-Esterase (Carboxylesterase) durch E 600 nicht inaktiviert wurde.

In einer weiteren Untersuchung fand Aldridge (1953 b) ein E 600-hydrolisierendes Enzym, genannt E 600-Esterase. Vergleichende Untersuchungen bezüglich der Eigenschaften dieses Enzyms ergaben eine Identität mit der bereits bekannten A-Esterase, nicht aber mit der sauren und alkalischen Serumphosphatase.

Zu dieser Serum-Arylesterase wurde weitere umfangreiche Forschungsarbeit geleistet, insbesondere von Augustinsson und Heimbürger (1954 a, 1954 e, 1955 a), Mounter (1954), Friedberg und Erdmann (1959), Main (1960), sowie von Schaumann und Schiller (1960). Diese Autoren kommen zu dem Ergebnis, daß Nativseren wahrscheinlich ein Enzym mit bevorzugt E 600-spaltender Aktivität besitzen.

Versuche über den Vergiftungsgrad der Serum-Cholinesterase durch E 600, die von Geldmacher-v.Mallinckrodt und Lindorf (1969) sowie von Geldmacher-v.Mallinckrodt, Rabast und Lindorf (1969) durchgeführt wurden, brachten folgendes Ergebnis:
Bei Messung der Cholinesteraseaktivität (Warburgappa-

ratur; Substrat Acetylcholinchlorid) von 75 Probandenseren nach Inkubation (60 min.; 37°C; pH 7,7) mit E 600 in $3{,}2 \times 10^{-8}$ molarer Konzentration stellte sich unabhängig von der Ausgangsaktivität eine Gruppierung in niedere, mittlere und hohe "Typen" bezüglich der Vergiftung durch E 600 heraus (vgl. hierzu Tabelle I).

Tabelle I

Restaktivität gemessen in % der Normalaktivität nach Vergiftung von 75 menschlichen Serumproben mit E 600 ($c = 3{,}2 \times 10^{-8}$ molar) und Aufteilung in drei Gruppen:

Gruppe	Personenzahl	Restaktivität in % der Normalaktivität
I	38	0 - 6 (niedrig)
II	22	12 - 22 (mittel)
III	15	30 - 50 (hoch)

Diese unterschiedliche Vergiftbarkeit menschlicher Serum-Cholinesterase nach Inkubation mit E 600 (0,0-Diäthyl-0-(p-nitrophenyl)-phosphat) und ihre Einteilung in drei Gruppen haben zu Überlegungen hinsichtlich der Ursachen, der Verteilung in der Bevölkerung und einer eventuellen genetischen Steuerung geführt.

Untersuchungen zu diesem letztgenannten, genetischen Aspekt wurden bereits von Krisch (1968) angestellt. Ebenso wie Skrinjarik-Spoljar und Reiner (1968) und vor diesen schon Aldridge (1953 a), der im Serum von Kaninchen, Ratte und Pferd ein E 600-spaltendes Enzym fand, konnte auch Krisch (1968) nachweisen, daß das menschliche Serum ein Enzym, Arylesterase oder auch Paraoxonase (EC 3.1.1.2.) genannt, besitzt. Dieses Enzym spaltet E 600 bei einer Konzentration, die weit über der liegt, die für die völlige Vergiftung der Cholinesterase notwendig ist. Das pH-Optimum dieser Reaktion lag bei 11,0 - 11,6. Aufgrund der Untersuchung der Arylesteraseaktivität im Serum von jeweils 25 Männern und Frauen unterscheidet Krisch (1968) zwei sich überschneidende Personengruppen, die sich durch die Höhe der Fermentaktivität voneinander unterscheiden, wobei es aber aufgrund des großen Überlagerungsbereiches im Einzelfall oft nicht möglich war, eine bestimmte Versuchsperson sicher einer der beiden Gruppen zuzuordnen.

Zwischen der nach Krisch (1968) gemessenen Aktivität der Serum-Arylesterase bzw. Paraoxonase (EC 3.1.1.2.) und der Serum-Cholinesterase-Restaktivität nach Vergiftung mit E 600 besteht eine starke Korrelation, wie Geldmacher-v.Mallinckrodt, Baumgartner, Pétényi, Burgis, Lindorf und Metzner (1972) bei 50 Probanden

zeigten. Das Serum von Personen mit einer hohen Paraoxonaseaktivität weist also auch eine hohe Serum-Cholinesterase-Restaktivität nach Vergiftung mit E 600 auf.

Der Gedanke Krischs an genetische Ursachen wird durch Familienuntersuchungen von Geldmacher-v.Mallinckrodt, Lindorf, Pétényi, Flügel, Fischer und Hiller (1973) erhärtet, die gezeigt haben, daß die menschliche Serumparaoxonase einen Polymorphismus aufweist, der wahrscheinlich genetisch determiniert ist und einem einfachen 2-Allele-Modell folgt.

B. PROBLEMSTELLUNG

Zur Feststellung der Paraoxonaseaktivität sind zwei verschiedene Meßmethoden anwendbar:

1. Die spektrophotometrische Methode, mit der nach Krisch (1968) das aus Paraoxon ($c = 10^{-4}$ molar) bei pH = 11,2 abgespaltene p-Nitrophenol gemessen wird.
2. Die Anti-ChE-Technik, wobei die Paraoxonaseaktivität ermittelt wird durch die Feststellung der Serum-Cholinesterase-Restaktivität nach Inkubation mit E 600 ($c = 3{,}2 \times 10^{-8}$ molar), ausgedrückt in Prozent der individuellen Ausgangsaktivität.

Für die aus beiden Verfahrensweisen stammenden Versuchsergebnisse ließ sich, ungeachtet der unterschiedlichen Bedingungen (z.B. pH-Wert, Pufferzusammensetzung, Temperatur, Meßzeit, Paraoxonkonzentration), ein Korrelationskoeffizient von $r = +0{,}82$ ermitteln, der die Korrelation hochsignifikant sichert ($t = 9{,}6$, s. Geldmacher-v.Mallinckrodt et al., 1972). Als entscheidendes Moment für die bei der Anti-ChE-Technik auftretende unterschiedliche Hemmung der Serum-Cholinesterase ist somit eine unterschiedliche Paraoxonaseaktivität anzusehen.

Oben genannter Korrelationskoeffizient wurde aufgrund

einer als linear angenommenen Beziehung errechnet. Die Korrelation zwischen dem negativen Logarithmus der Paraoxonkonzentration und einer sich ergebenden Cholinesterasehemmung zeigt jedoch einen S-förmig gebogenen Verlauf. Daraus folgt, daß die Beziehung zwischen der Paraoxonaseaktivität und der Serum-Cholinesterase-Restaktivität nicht linear sein kann (Geldmacher-v.Mallinckrodt, 1972). Folglich ergibt der richtige mathematische Ausdruck für diese Beziehung einen Korrelationskoeffizienten $r > +0{,}82$.

Trotzdem muß daran gedacht werden, daß unter Umständen auch andere unspezifische Serumesterasen an der Abspaltung von p-Nitrophenol aus Paraoxon mitbeteiligt sind. So wird z.B. bei der Reaktion der Cholinesterase mit Paraoxon zwar der Phosphatrest sehr stark an das Enzym gebunden, der p-Nitrophenolanteil jedoch freigesetzt.

Um zu prüfen, ob diese Reaktion einen wesentlichen Einfluß auf die mit der Anti-ChE-Technik gewonnenen Ergebnisse hat, wurden im Rahmen dieser Arbeit 156 Probandenseren, teils von Blutspendern der Erlanger Blutbank, teils aus Bekanntenkreisen, auf ihre Serum-Cholinesterase-Restaktivität hin untersucht und nach quantitativen Aspekten typologisiert. Die ermittelten

Werte wurden der jeweils zugehörigen Cholinesterase-Ausgangsaktivität gegenübergestellt und die Korrelation geprüft.

C. EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN

1. Versuchsanordnung

Methode zur Messung der Verteilung der Serum-Cholinesteraseaktivität mit Butyrylcholinjodid als Substrat (in der Warburgapparatur). Butyrylcholinjodid ist ein spezifisches Substrat, das von der Acetylcholinesterase des Serums nicht umgesetzt wird, dagegen aber einen sehr schnellen Abbau durch die Pseudocholinesterase erfährt. Es kann zu spezifischen enzymatischen Testen im Serum verwendet werden, da die Aktivitäten anderer Enzyme ausgeschlossen werden, vor allem die der Acetylcholinesterase.

Der Vorteil gegenüber dem häufig verwendeten Acetylcholin tritt besonders dann hervor, wenn Aktivitäten im Serum gemessen werden sollen, die bei Entnahme oder durch zu langes Stehen des Blutes hämolytisch geworden sind, so daß ein Übertritt der Acetylcholinesterase ins Serum stattfinden konnte (s. Goedde, Doenicke und Altland, 1967).

a. Gewinnung des Serums

Den Probanden wurde mit einer Venüle 10 ml Blut ent-

nommen, wobei zu beachten war, daß keiner von ihnen unter Lebererkrankungen oder Diabetes mellitus litt, und unter ihnen keine Blutsverwandschaft bestand. Das Blut wurde etwa 30 Minuten nach der Entnahme 15 Minuten lang bei 1600 U/min zentrifugiert, wobei das überstehende Serum nicht hämolytisch werden durfte. Im Anschluß daran wurde das gewonnene Serum vom Blutkuchen abgetrennt. Die erste Messung wurde spätestens nach 48 Stunden durchgeführt.

b. Angewandtes Meßverfahren

Die Serum-Cholinesteraseaktivität wurde in einer Warburgapparatur vom Typ V 85 der Firma Braun/Melsungen, nach der manometrischen Methode von Ammon (1934), in der Modifikation von Friedberg und Sakai (1958), jedoch mit einem pH-Wert von 7,2, bestimmt. Die Bedingungen der Inkubation mit E 600 wurden auf die nachfolgende Aktivitätsmessung abgestimmt.

c. Inkubation mit E 600 (Paraoxon)

Für die Vergiftung des Ferments wurde mittels einer geeichten Pipette E 600 zu destilliertem Wasser gegeben und etwa acht Minuten lang gut im Erlenmayer-Kolben vermengt. Von dieser Lösung wurde dann die Menge zu

der als Verdünnungslösung für das Serum verwendeten Salzlösung pipettiert und 0,15 ml Serum mit der E 600-haltigen Verdünnungslösung verdünnt, bis im Inkubationsansatz die E 600-Konzentration c = $3,2 \times 10^{-8}$ molar betrug. Die Verdünnungslösung setzte sich dabei aus 10 Teilen einer 0,9 %igen NaCl-Lösung und drei Teilen einer 1,26 %igen $NaHCO_3$-Lösung zusammen. Von den Inkubationsansätzen wurden je 0,5 ml in die Anhangsbirne eines Warburggefäßes pipettiert, das im Hauptraum 1,5 ml einer 0,546 %igen wässrigen Lösung von Butyrylcholinjodid enthielt. Die Warburgkölbchen wurden dann auf Manometer, die zum Zwecke der absoluten Abdichtung dünn mit Schliff-Fett bestrichen wurden, aufgesteckt und in ein 37°C warmes Wasserbad gebracht. Im Anschluß daran wurden alle Manometer mit einem Gasgemisch aus 5 % CO_2 und 95 % N_2 begast. Nach dem Begasen wurde noch so lange bei 37°C inkubiert, bis eine Gesamtinkubationszeit von 60 Minuten erreicht war. Während der Inkubation lag der pH-Wert bei etwa 7,7 (Süllmann, 1964).

d. Messung der Cholinesteraseaktivität

Nach Beendigung der Inkubation wurde die Serumverdünnung in allen Anhangsbirnen in den Hauptraum der Warburggefäße gekippt. Der pH-Wert lag nun bei 7,2 (Süll-

mann, 1964). Nach dreiminütigem Schütteln bei noch geöffneten Manometerhähnen (Schüttelfrequenz 100/min) wurde die Manometervordifferenz abgelesen, die Hähne wurden geschlossen. Im Anschluß daran wurde der Manometerstand einmal nach 15 und einmal nach 30 Minuten abgelesen. Die Seren wurden in Doppelbestimmungen mit und ohne E 600 bei Verwendung von Butyrylcholinjodid als Substrat auf ihre Restaktivität geprüft. Zur Kontrolle liefen bei jedem Versuch zwei Leerwerte mit, und zwar derart, daß sich im Kölbchenanhang der ersten beiden Warburggefäße nur Verdünnungslösung befand, wodurch die Eigenhydrolyse des Substrats erfaßt wurde. Diese Doppelbestimmungen wurden zweimal durchgeführt, so daß in zwei Versuchsabläufen drei Seren mit jeweils insgesamt vier Leerwerten, vier unvergifteten und vier vergifteten Ansätzen auf ihre Restaktivität geprüft wurden. Daraufhin wurden die 30 min-Werte der Doppelmessung mit den entsprechenden Manometerkonstanten (Süllmann, 1964) multipliziert. Ebenso wurde der Leerwert errechnet. Nach Bildung des arithmetischen Mittels beider Wertepaare wurde der Leerwert von der Fermentmessung abgezogen. Auf die gleiche Weise wurde der zweite Versuchsablauf ausgewertet und aus beiden Ergebnissen wiederum das arithmetische Mittel errechnet. Die Angabe der Aktivität erfolgt in µl CO_2/30 min, bezogen auf 0,15 ml Serum.

2. Versuchsergebnisse

Die aus den Seren von 156 Personen gewonnenen Versuchsergebnisse sind, nach steigender Restaktivität geordnet, in nachstehender Tabelle II aufgeführt. Eine graphische Darstellung von dem zu ermittelnden Zusammenhang zwischen Restaktivität und Ausgangsaktivität ist in Abb. 1 gegeben.

(Soweit sie bekannt waren, sind in Tabelle II für spätere Auswertungen auch die Blutgruppen für die Systeme ABO sowie Rh/rh angegeben.)

Tabelle II

Versuchsergebnisse der Messungen mit Serum-Cholinesteraseaktivität mit dem Substrat Butyrylcholinjodid ohne und mit Vergiftung durch E 600 bei 156 Probanden (geordnet nach steigender Cholinesterase-Restaktivität).

	Name mit Alter der Versuchsperson und Blutgruppe, soweit bekannt		Restaktivität in % der Normalaktivität nach Vergiftung	Ausgangsaktivität in µl CO_2/30 min
1.	Georg Rudel	40 J. A+	0,1	219,5
2.	Rainer Ziegler	34 J.	0,2	155,2
3.	Willy Koegst	27 J. A+	0,2	274,7

	Name mit Alter der Versuchsperson und Blutgruppe, soweit bekannt		Restaktivität in % der Normalaktivität nach Vergiftung	Ausgangsaktivität in µl CO_2/ 30 min
4.	Michael Hilburger	41 J. 0+	0,2	180,9
5.	Peter Schenkel	29 J. A+	0,3	217,2
6.	Angelika Brambach	17 J.	0,3	184,5
7.	Heinz Groß	37 J. A+	0,4	162,0
8.	Anneliese Schüppel	47 J.	0,4	164,7
9.	Gudrun Frank	26 J.	0,6	206,4
10.	Karl Steinbrecher	52 J. 0+	0,7	206,4
11.	Klaus Kramer	27 J. A+	0,8	165,8
12.	Johann Lugauer	35 J. 0+	0,8	211,7
13.	Volker Wünsche	30 J. B+	0,9	187,2
14.	Adelheim Philipp	17 J.	1,1	176,2
15.	Vilf Zeef	28 J. 0+	1,2	106,7
16.	K.-Heinz Drummer	22 J. 0+	1,2	224,3
17.	Erhard Peschke	37 J. A+	1,2	174,0
18.	Bert Roy	30 J.	1,3	56,7
19.	Harald Schütz	28 J.	1,4	195,9
20.	Ingrid Pfeifenberger	26 J. A+	1,4	119,0
21.	Elisabeth Marrek	44 J.	1,4	170,7
22.	Rolf Günkel	24 J. A-	1,5	140,1
23.	Heinrich Meyer	28 J. 0+	1,5	195,0
24.	Ranghild Solheim	24 J.	1,6	227,4
25.	Siegfried Gehmann	24 J.	1,6	166,3
26.	Gustav Güthlein	46 J. B+	1,8	211,1

	Name mit Alter der Versuchsperson und Blutgruppe, soweit bekannt		Restaktivität in % der Normalaktivität nach Vergiftung	Ausgangsaktivität in µl CO_2/30 min
27.	Angelika Saueressig	17 J.	1,9	193,0
28.	Hedwig Münch	51 J. A+	1,9	182,9
29.	Margareta Nein	73 J.	2,0	203,9
30.	Roswitha Krüger	22 J.	2,1	185,2
31.	Ernst Wolters	30 J.	2,1	163,7
32.	Norbert Skalsky	34 J.	2,2	143,9
33.	Werner Hikel	31 J. B+	2,3	169,0
34.	Volker Merz	27 J. A+	2,4	173,8
35.	Gerhard Müller	26 J. A+	2,4	178,3
36.	Günther Hofmann	37 J. 0+	2,5	208.2
37.	Friedmann Hilek	26 J. A+	2,6	199,1
38.	Harry Block	27 J. A+	2,8	216,9
39.	Peter Turan	23 J. A-	2,9	201,8
40.	Michael Lechner	25 J.	3,3	214,6
41.	Monika Weber	22 J.	3,3	164,7
42.	Maria Lauer	60 J. 0+	3,3	148,1
43.	Marianne Maier	25 J.	3,4	131,5
44.	Hildegard Hennegrift	22 J. 0+	3,4	166,9
45.	Franz Hurrelmann	29 J.	3,4	274,1
46.	Maria Scholze	23 J.	3,6	158,2
47.	Karl Gerlach	25 J. A+	3,7	140,3
48.	Gabriele Deyerling	20 J.	3,7	182,7
49.	Harald Demetz	23 J. B+	3,7	227,1

	Name mit Alter der Versuchsperson und Blutgruppe, soweit bekannt			Restaktivität in % der Normalaktivität nach Vergiftung	Ausgangsaktivität in μl CO_2/30 min
50.	Wolfgang Sohr	25 J.		3,7	208,8
51.	Erika Mieth	61 J.		3,9	140,5
52.	Helmut Plötz	28 J.		4,0	225,4
53.	Elke Elzer	31 J.	A+	4,0	185,6
54.	Anna Stock	65 J.	A+	4,0	197,1
55.	Erika Track	40 J.		4,1	171,6
56.	Margarete Weiß	76 J.	B+	4,1	174,9
57.	Richard Bohlig	62 J.	B+	4,1	235,2
58.	Siegfried Will	44 J.	A+	4,3	219,5
59.	Rainer Hölscher	30 J.	A+	4,3	102,6
60.	Ingrid König	21 J.	B-	4,6	209,4
61.	Angelika Trippner	22 J.		4,7	170,2
62.	Beate Büssecker	19 J.		4,7	160,3
63.	Renate Frisch	22 J.		4,8	165,7
64.	Angelika Käppel	20 J.	A+	4,9	168,0
65.	Gusti Blanck	51 J.		5,1	183,5
66.	Bernhard Böwig	30 J.		5,1	183,3
67.	Sybille Botzenhart	29 J.		5,1	131,4
68.	Ella Herzog	25 J.		5,2	205,1
69.	Frieda Gries	50 J.		5,3	208,4
70.	Knut Walter	23 J.		5,3	188,7
71.	Edelgard Wedel	33 J.		5,6	140,2
72.	Anke Sillu	21 J.		5,6	137,3

	Name mit Alter der Versuchsperson und Blutgruppe, soweit bekannt		Restaktivität in % der Normalaktivität nach Vergiftung	Ausgangsaktivität in µl CO_2/30 min
117.	Josef Wergen	52 J.	28,7	281,9
118.	Gisela Renn	26 J. O-	28,9	181,5
119.	Georg Krauß	33 J.	29,2	196,1
120.	Armin Lauterwald	23 J.	29,5	172,6
121.	Anni Reichensperger	33 J.	29,6	135,1
122.	Heinz Kießewetter	26 J. AB+	29,7	193,7
123.	Hans Czech	39 J. AB+	30,1	195,9
124.	Petra Seifert	20 J.	31,8	236,3
125.	Josef Sauer	39 J. O+	31,9	176,6
126.	Margit Schuhmann	21 J.	32,0	218,9
127.	Wolfgang Schmidt	25 J. AB+	32,6	209,6
128.	Angela Wilburger	30 J.	33,1	157,3
129.	Rity Scheiring	25 J.	33,2	126,4
130.	Monika Behrend	22 J.	33,4	179,3
131.	Hannelore Hoffmann	39 J.	34,2	258,0
132.	Anni Heger	50 J.	34,5	173,1
133.	Irmtraut Frankenberger	35 J. A+	35,5	177,7
134.	Otto Höhn	52 J. A+	35,7	217,5
135.	Rainer Holl	30 J. A+	35,8	221,9
136.	Jutta Sauckel	23 J.	36,4	172,4
137.	Hans Pregartner	34 J. A+	37,0	237,9
138.	Willi Baumüller	43 J. B+	37,2	224,6
139.	Else Müller	45 J.	37,5	208,9

	Name mit Alter der Versuchsperson und Blutgruppe, soweit bekannt		Restaktivität in % der Normalaktivität nach Vergiftung	Ausgangsaktivität in µl CO_2/30 min
140.	Anton Stressner	49 J. A+	37,9	203,9
141.	Herbert Holzer	36 J. O+	39,1	259,1
142.	Gabriele Schramm	24 J.	39,2	120,8
143.	Lotte Schönborn	54 J.	40,6	205,3
144.	Grete Weber	51 J. O+	41,0	153,2
145.	Margit Spiek	28 J. A+	41,1	112,9
146.	Karl Sommersacker	22 J.	41,1	232,8
147.	Bernadine Pawlowsk	36 J. B-	41,6	106,4
148.	Marie Zeissler	73 J. B+	42,6	241,6
149.	Klaus Fenske	21 J.	47,3	217,4
150.	Anne Hösch	23 J.	48,7	207,6
151.	Alfred Schwarzfischer	30 J.	49,7	192,8
152.	Gerlinde Popp	35 J. B+	50,9	142,0
153.	Siegfried Richter	26 J. O+	51,6	234,3
154.	Norbert Lattner	29 J. O+	51,7	224,8
155.	Barbara Kosmowski	25 J.	57,8	172,5
156.	Joachim Romig	33 J. O+	60,5	220,1

Abb. 1

Ausgangsaktivität
in μl CO_2/30 min.
300
290
280
270
260
250
240
230
220
210
200
190
180
170
160
150
140
130
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20
22
24
26
28
30
32
34
36
38
40
42
44
46
48
50
52
54
Restaktivität in %
I
II
III

3. Auswertung

Trägt man die an 156 Probandenseren gewonnenen Ergebnisse der vorausgegangenen Tabelle in ein Koordinatensystem ein, auf dessen Abszisse die Cholinesterase-Restaktivität nach Vergiftung mit E 600 in $3,2 \times 10^{-8}$ molarer Konzentration und auf dessen Ordinate die Ausgangsaktivität angezeigt ist, so zeigt sich zunächst hierbei eine Aufteilung in drei Gruppen mit niedriger, mittlerer und hoher Restaktivität, ohne Überlappung in den Grenzbereichen. Weiterhin zeigt die graphische Darstellung deutlich, daß ein Zusammenhang zwischen ermittelter Restaktivität und der dazugehörigen Ausgangsaktivität nicht besteht. Tatsächlich ergab die mathematische Auswertung der Versuchsergebnisse mittels einer Korrelationsberechnung einen Korrelationskoeffizienten von $r = 0,1157$.

Damit ist graphisch dargestellt und mathematisch bewiesen, daß bei den hier untersuchten 156 Seren nach Vergiftung mit E 600 in $3,2 \times 10^{-8}$ molarer Konzentration kein stochastischer Zusammenhang zwischen ihrer Cholinesterase-Ausgangsaktivität und der Restaktivität vorliegt.

D. DISKUSSION UND ZUSAMMENFASSUNG

Die von Geldmacher-v.Mallinckrodt, Lindorf und Rabast (1969) experimentell ermittelte unterschiedliche Vergiftbarkeit menschlicher Serum-Cholinesterasen nach Inkubation mit E 600 (Paraoxon) zeigte sich erneut bestätigt: Bei Messung der Cholinesteraseaktivität von 156 Seren nach Vergiftung mit E 600 in $3,2 \times 10^{-8}$ molarer Konzentration ergab sich eine Aufteilung in drei Gruppen mit niedriger, mittlerer und hoher Restaktivität. Ursache hierfür ist wohl im wesentlichen eine unterschiedliche Paraoxonaseaktivität, die auch über die Cholinesterase-Restaktivität zu bestimmen ist. Die vorliegenden Werte sind u.a. ein Beitrag zur Aufklärung der Verteilung der drei Gruppen.

Die Untersuchungen zu einer möglichen Korrelation der Cholinesteraseausgangsaktivität des menschlichen Serums und der Restaktivität nach Vergiftung mit E 600 ergaben nach Auswertung der Versuchsergebnisse mit Hilfe einer Korrelationsberechnung einen Korrelationskoeffizienten von r = 0,1157. Es ist deshalb auszuschließen, daß ein solcher Zusammenhang besteht, und die Ausgangsaktivität der Serum-Cholinesterase einen Einfluß auf die Restaktivität nach Vergiftung mit E 600 in $3,2 \times 10^{-8}$ molarer Konzentration hat.

E. BIBLIOGRAPHIE

ALDRIDGE, W.N.:
Serumesterases. 1. Two types of esterases (A and B) hydrolysing p-nitrophenyl acetate, proprionate and butyrate, and a method for their determination
Biochem. J. 53, 110 (1953 a)

ALDRIDGE, W.N.:
Serumesterases. 2. An enzyme hydrolysing diethyl-p-nitrophenyl phosphate (E 600) and its identity with the A-Esterase of mammalian sera
Biochem. J. 53, 117 (1953 b)

AMMON, R.:
Die fermentative Spaltung des Acetylcholins
Pflügers Arch. ges. Physiol. 233, 486 (1934)

AUGUSTINSSON, K.-B. und HEIMBÜRGER, G.:
The enzymatic hydrolysis of organophosphorus compounds. I. Occurrence of enzymes hydrolysing dimethylamido-ethoxy-phosphoryl-cyanide (Tabun)
Acta Chem. Scand. 8, S. 762-767 (1954 b)

AUGUSTINSSON, K.-B. und HEIMBÜRGER, G.:
Enzymic hydrolysis of organophosphorus compounds
IV. Specificity studies
Acta Chem. Scand. 8, S. 1533-1541 (1954 e)

AUGUSTINSSON, K.-B. und HEIMBÜRGER, G.:
V. Effect of phosphorylphosphatase on the inactivation of cholinesterase by organophosphorus compounds in vitro
Acta Chem. Scand. 9, S. 310-318 (1955 a)

FRIEDBERG, K.D. und ERDMANN, W.D.:
Spontane Reaktivierung der durch Alkylphosphate (Paraoxon, Systox, Isosystox) blockierten Cholinesterase in vitro
Naunyn-Schmiedeberg Arch. exp. Path. Pharmak. 237, 1 (1959)

FRIEDBERG, K.D. und SAKAI, F.:
Spezifischer Nachweis von Vergiftungen mit Alkylphosphaten (E 600, E 605, Systox) im Blut und Hirngewebe mit Hilfe eines fermentreaktivierenden Antidots (Pyridin-Aldoxim-Methyl-jodid, PAM)
Dtsch. Z. ges. Gerichtl. Med. 47, 580 (1958)

GELDMACHER-v.MALLINCKRODT, M., BAUMGARTNER, W., PETENYI, M., BURGIS, H., LINDORF, H.H. und METZNER, H.:
Korrelation zwischen der unterschiedlichen Vergiftbarkeit der Serum-Cholinesterase durch E 600 und der Aktivität des E 600-spaltenden Enzymsystems in menschlichen Seren
Z. Physiol. Chem. 353, 217 (1972)

GELDMACHER-v.MALLINCKRODT, M. und LINDORF, H.H.:
Unterschiedliche Reaktion menschlicher Serum-Cholinesterasen mit Alkylphosphaten
Arch. Toxikol. 25, 223 (1969)

GELDMACHER-v.MALLINCKRODT, M., LINDORF, H.H., PETENYI, M., FLÜGEL, M., FISCHER, Th. und HILLER, Th.:
Genetisch determinierter Polymorphismus der menschlichen Serum-Paraoxonase (EC 3.1.1.2.)
Humangenetik 17, 331 (1973)

GELDMACHER-v.MALLINCKRODT, M., RABAST, U. und LINDORF, H.H.:
Unterschiedliche Reaktion menschlicher Serum-Cholinesterasen mit E 600 (0,0-Diäthyl-0-(p-nitrophenyl)-phosphat)
Arch. Toxikol. 25, 223 (1969)

GOEDDE, H.W., DOENICKE, A. und ALTLAND, K.:
Pseudocholinesterasen
Berlin (1967)

KRISCH, K.:
Enzymatische Hydrolyse von Diäthyl-p-nitrophenyl-phosphat (E 600) durch menschliches Serum
Z. klin. Chem. klin. Biochem. 6, 41 (1967)

MAIN, A.R.:
The purification of the enzyme hydrolysing diethyl-p-nitrophenyl-phosphate (paraoxon) in sheep serum
Biochem. I. 74, S. 10-20 (1960)

MOUNTER, L.A.:
I. Biol. Chem. 209, 813-817 (1954)

SCHAUMANN, W. und SCHILLER, M.:
Inaktivierung von Alkylphosphaten im Gehirn und im Serum
Naunyn-Schmiedebergers Arch. Exp. Pathol. Pharmakol. 239, S. 114-125 (1960)

SKRINJARIK-SPOLJAR, M. und REINER, E.:
Hydrolysis of diethyl-p-nitrophenyl-phosphate and ethyl--p-nitrophenyl-ethylphosphanate by human sera
Biochem. Biophys. Acta 165, 289 (1968)

SÜLLMANN, E.:
Manometrische Methoden zur Untersuchung des Gewebe-
stoffwechsels, in:
LANG, K. und LEHNARTZ, E., Hrgb.:
Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemi-
schen Analyse, Bd. VI, Teil A, Berlin (1964)

Herrn Professor Dr. H.B.Wuermeling fühle ich mich zu großem Dank verpflichtet für die Arbeitsmöglichkeit, die er mir in seinem Institut einräumte, und die freundliche Übernahme des Korreferates.

Besonderen Dank möchte ich Frau Professor Dr.Dr. M.Geldmacher-v.Mallinckrodt aussprechen für die Überlassung des Themas und ihre stets überaus entgegenkommende Hilfsbereitschaft.

Frau Dr. M.Pétényi bin ich sehr verbunden für ihre Mitarbeit bei der Auswertung der Ergebnisse.

Lebenslauf

Personalien:	Alfred Schwarzfischer	geb. 15.4.1944 in Waging/See
	Staatsangehörigkeit:	deutsch
	Familienstand:	ledig
	Eltern:	Alfons Schwarzfischer, Zahnarzt, und Monika Schwarzfischer, geb. Richinger
Ausbildung:	Volksschule:	1950-1956 in Waging/See
	Höhere Schule:	1956-1963 Progymnasium in Schäftlarn
		1963-1964 Wilhelmsgymnasium in München
		1964-1967 Gymnasium in Pfarrkirchen
		1967 Abitur in Pfarrkirchen
	Universität:	WS 1967/68 in München, Studienfach Tiermedizin
		SS 1968 - SS 1973 in Erlangen Studium der Zahnmedizin
	Prüfungen:	1969 Vorphysikum in Erlangen
		1971 Physikum in Erlangen
		1973 Staatsexamen in Erlangen